

卫生防疫检验

(细菌检验)

何晓青 主编

宋元鋋 李显英 罗衡生 沈慧灵编

下 册

江西省卫生防疫站

下 册 目 录

第二篇 病原细菌学检验

第七章 肠道病原菌检验

- 第一节 肠杆菌科概论..... (1)
- 第二节 沙门氏菌属..... (6)
- 第三节 志贺氏菌属..... (20)
- 第四节 艾希氏菌属..... (24)
 - 一、致病性大肠艾希氏菌..... (25)
 - 二、发硷-殊异菌类..... (27)
- 第五节 变形杆菌族..... (28)

第八章 霍乱的细菌学检验

- 第一节 霍乱弧菌的生物学特性..... (31)
- 第二节 细菌学检验..... (34)
- 第三节 自外界环境标本中分离弧菌的方法..... (38)
 - 附：霍乱实验室工作规则..... (39)

第九章 呼吸道病原菌检验

- 第一节 脑膜炎奈瑟氏菌..... (40)
- 第二节 白喉棒状杆菌..... (42)
- 第三节 嗜血杆菌属与包特氏菌属..... (46)
- 第四节 肺炎链球菌..... (49)
- 第五节 链球菌属..... (51)

第十章 鼠疫的细菌学检验

- 第一节 鼠疫耶尔辛氏菌的生物学特性..... (55)
- 第二节 鼠疫耶尔辛氏菌的检验..... (58)
- 第三节 鼠疫耶尔辛氏菌与类似菌的鉴别..... (62)
- 第四节 鼠疫耶尔辛氏菌的快速诊断..... (64)
 - 附：鼠疫实验室工作规则..... (65)

第十一章 创伤及化脓性感染的细菌学检验

- 第一节 概论..... (67)

第二节	革兰氏阳性球菌类·····	(68)
第三节	革兰氏阴性杆菌类·····	(69)
第四节	梭菌属·····	(73)
第十二章	钩端螺旋体病的病原学检验	
第一节	钩端螺旋体的生物学特性·····	(75)
第二节	钩端螺旋体的检验·····	(76)
第三节	钩端螺旋体的鉴定·····	(84)

第三篇 卫生细菌学检验

第十三章 卫生细菌学常规检验方法

第一节	菌落总数的测定·····	(87)
第二节	大肠菌群的检验·····	(90)

第十四章 食品卫生细菌学检验

第一节	肉及肉制品·····	(97)
第二节	乳及乳制品·····	(99)
第三节	蛋品·····	(102)
第四节	水产品·····	(105)
第五节	清凉饮料·····	(106)
第六节	罐头·····	(109)
第七节	糖果、糕点、果脯·····	(111)
第八节	调味品·····	(111)
第九节	蔬菜、瓜果·····	(112)
第十节	冷食菜·····	(113)
第十一节	酒类·····	(113)

第十五章 细菌性食物中毒的检验

第一节	概论·····	(115)
第二节	沙门氏菌食物中毒检验·····	(117)
第三节	大肠杆菌食物中毒检验·····	(119)
第四节	变形杆菌食物中毒检验·····	(120)
第五节	副溶血性弧菌食物中毒检验·····	(121)
第六节	腊样芽胞杆菌食物中毒检验·····	(124)
第七节	粪链球菌食物中毒检验·····	(126)
第八节	葡萄球菌食物中毒检验·····	(128)

第九节	肉毒中毒检验	(129)
第十节	韦氏梭菌食物中毒检验	(131)
第十六章 肉类和食物中病原菌检验		
第一节	结核分枝杆菌	(133)
第二节	炭疽芽胞杆菌	(135)
第三节	红斑丹毒丝菌	(140)
第四节	多杀性巴斯德氏菌	(143)
第五节	布鲁氏菌属	(144)
第十七章 水、土壤、空气卫生细菌学检验		
第一节	饮用水、水源水	(150)
第二节	污水	(154)
第三节	土壤	(156)
第四节	空气	(157)

第四篇 细菌学技术基础

第十八章 细菌实验室基本技术

第一节	仪器设备	(161)
一、	显微镜	(161)
二、	电冰箱	(165)
三、	水温箱	(167)
四、	培养箱	(168)
五、	干燥箱	(168)
六、	血清凝固器	(169)
七、	细菌滤器	(170)
八、	离心沉淀器	(171)
九、	真空抽气机	(172)
十、	高压蒸气灭菌器	(173)
第二节	玻璃仪器清洁法	(175)
一、	新购玻璃器皿	(175)
二、	用过的玻璃器皿	(175)
第三节	消毒和灭菌	(177)
一、	化学方法	(177)
二、	物理方法	(179)

第四节 细菌培养法	(181)
一、无菌技术	(181)
二、培养基的接种	(182)
三、二氧化碳培养法	(182)
四、厌氧培养法	(182)
第十九章 培养基制造	
第一节 概论	(184)
第二节 培养基的pH	(187)
第三节 基础培养基	(192)
1. 牛肉浸液	(192)
2. 牛肉消化液	(192)
3. 肉膏汤	(193)
4. 血消化液琼脂	(194)
5. 肉浸液琼脂	(194)
6. 豆粉琼脂	(195)
7. 血液琼脂	(196)
第四节 生化试验用培养基	(197)
糖类代谢试验用:	
8. 糖发酵管	(197)
9. 血清水糖发酵管	(198)
附: 血清糖发酵管	(198)
10. 5%乳糖发酵管	(199)
11. 乳酸杆菌糖发酵管	(199)
12. 厌氧菌糖发酵管	(200)
13. Board-Holding二氏培养基	(200)
14. Hugh-Leifson二氏培养基	(200)
15. 甘油品红肉汤	(201)
16. 淀粉血清琼脂	(201)
17. 七叶苷培养基	(202)
18. 几丁质琼脂	(202)
19. 果胶酸盐培养基	(202)
20. 改良果胶酸盐培养基	(203)
21. 甲基红-V-P试验培养基	(203)

氨基酸和蛋白质代谢试验用:

22. 蛋白胨水·····	(204)
23. 厌氧菌用蛋白胨水·····	(204)
24. 醋酸铅试纸培养基·····	(204)
25. 厌氧菌醋酸铅培养基·····	(205)
26. 含铁半固体管·····	(205)
27. 苯丙氨酸琼脂·····	(206)
28. 爱德华氏改良苯丙氨酸琼脂·····	(207)
29. 氨基酸脱羧酶试验培养基·····	(207)
30. Thornley 氏精氨酸培养基·····	(208)
31. 尿素培养基·····	(208)
32. 明胶培养基·····	(208)
33. 厌氧菌用明胶培养基·····	(209)

碳源和氮源利用试验用:

34. 有机酸盐培养基·····	(209)
35. 丙二酸钠培养基·····	(210)
36. 马尿酸钠培养基·····	(210)
37. 西蒙氏枸橼酸盐培养基·····	(210)
38. 葡萄糖铵培养基·····	(211)
39. 醋酸钠培养基·····	(211)
40. 克氏枸橼酸盐培养基·····	(212)
41. 无机盐基础培养基·····	(212)
42. 无氮基本培养基·····	(214)

其他生化试验用:

43. 硝酸盐培养基·····	(215)
44. 厌氧菌硝酸盐培养基·····	(215)
45. 脂酶试验培养基·····	(215)
46. 三酪素培养基·····	(216)
47. 石蕊牛乳培养基·····	(216)
48. 牛乳美蓝培养基·····	(217)
49. 染料抑菌试验培养基·····	(217)
50. 氰化钾培养基·····	(217)
51. 金氏培养基·····	(218)

第五节 专用培养基..... (219)

肠杆菌科用:

52. 亚硝酸盐增菌液..... (219)

53. 四硫磺酸盐肉汤..... (220)

54. MM 肉汤..... (220)

55. GN 肉汤..... (221)

附: 增菌培养基增菌效果测定法..... (221)

56. 胆盐葡萄糖肉汤..... (222)

57. SS 琼脂..... (222)

58. DC 琼脂..... (223)

59. Hektoen 肠道菌培养基..... (224)

60. 亚硫酸铋琼脂..... (224)

61. EMB 琼脂..... (226)

62. 中国蓝琼脂..... (226)

63. 麦康凯琼脂..... (226)

64. 乳糖-蔗糖发酵管..... (227)

65. 葡萄糖半固体管..... (227)

66. 三糖铁琼脂..... (228)

67. 鸡蛋培养基..... (228)

68. 游散琼脂..... (229)

69. Worfel-Ferguson 氏培养基..... (230)

70. 胰酪磷酸盐琼脂..... (230)

71. 甘油盐水保存液..... (230)

72. Banxong-Eliot 二氏保存液..... (231)

73. 营养肉汤和双层营养琼脂..... (231)

霍乱弧菌用:

74. 硷性蛋白胨水..... (232)

75. 硷性琼脂..... (232)

76. 庆大霉素琼脂..... (233)

77. 文-腊二氏保存液..... (233)

78. 改良文-腊二氏保存液..... (234)

副溶血性弧菌用:

79. 副溶血性弧菌增菌液..... (234)

80. 副溶血性弧菌选择琼脂..... (235)
81. 氯化钠蔗糖琼脂..... (235)
82. 3.5% 食盐琼脂..... (236)
83. 3.5% 食盐半固体琼脂..... (236)
84. 副溶血性弧菌生化反应培养基..... (236)
- 嗜血杆菌属-包特氏菌属用;
85. 巧克力琼脂..... (237)
86. 酵母汁琼脂..... (237)
87. 包-姜二氏培养基..... (238)
- 鼠疫杆菌用;
88. 亚硫酸钠琼脂..... (238)
89. 溶解血液琼脂..... (238)
90. 无蛋白胨琼脂..... (239)
91. 无蛋白胨酸性琼脂..... (239)
92. Otten氏培养基..... (239)
- 布鲁氏菌用;
93. 肝浸液培养基..... (239)
94. 马铃薯琼脂..... (240)
- 炭疽杆菌用;
95. 丙烷脒选择培养基..... (240)
96. 戊烷脒选择培养基..... (241)
- 球菌用;
97. 匹克氏增菌液..... (241)
98. 血培养肉汤..... (242)
99. 血液肉汤..... (242)
100. 血清肉汤..... (243)
101. 却浦曼氏培养基..... (243)
102. 硼酸血琼脂..... (243)
103. 6.5% 食盐肉汤..... (243)
104. pH9.6 葡萄糖肉汤..... (244)
105. 杜尔曼氏培养基..... (244)
106. 40% 胆汁肉汤..... (244)
- 白喉杆菌用;

107. 吕氏血清培养基.....	(245)
108. 亚碲酸钾血液琼脂.....	(245)
109. 白喉毒力试验培养基.....	(245)
脑膜炎球菌用:	
110. 卵黄双抗培养基.....	(247)
111. 猪血水巧克力培养基.....	(248)
112. 脑膜炎球菌生化反应平板培养基.....	(248)
113. 卵黄糖发酵平板.....	(249)
结核杆菌用:	
114. 罗氏培养基.....	(249)
115. 潘氏培养基.....	(250)
厌氧菌用:	
116. 硫乙醇酸钠汤.....	(250)
117. 庖肉培养基.....	(251)
118. 凝固血培养基.....	(252)
119. 刺激芽胞培养基.....	(252)
卫生细菌学用:	
120. 营养琼脂.....	(252)
121. 胰酪葡萄糖牛乳琼脂.....	(253)
122. 乳糖胆盐液体培养基.....	(253)
123. 亚硫酸铁琼脂.....	(254)
124. 30%胆汁乳糖肉汤.....	(254)
125. 奶油稀释液.....	(254)
钩端螺旋体用:	
126. 柯索夫氏培养基.....	(255)
127. 10%磷酸盐缓冲液培养基.....	(255)

第二十章 形态学和培养特性的检查

第一节 形态及染色检查.....	(256)
1. 吕氏硷性美蓝染色法.....	(257)
2. 稀释复红染色法.....	(257)
3. 革兰氏染色法.....	(257)
4. 抗酸性染色法.....	(258)
5. 奈瑟氏染色法.....	(259)

6. 阿尔培脱氏染色法	(260)
7. 鞭毛染色法	(261)
8. 缪尔氏荚膜染色法	(261)
9. 奥尔特氏荚膜染色法	(262)
10. 冯泰纳氏染色法	(262)
11. 螺旋体镀银染色法	(263)
12. 姬姆萨氏染色法	(265)
13. 螺旋体复红染色法	(265)
14. 螺旋体甲苯胺蓝染色法	(266)
第二节 培养特性检查	(267)
1. 菌落观察	(267)
2. 肉汤培养	(268)
3. 动力	(268)
4. 色素产生	(268)
5. 培养温度	(268)
6. 对氧气的需要	(269)
7. CO ₂ 的需要	(270)
8. 生长的 pH	(270)
9. 盐的浓度	(270)
10. 耐热试验	(271)

第二十一章 生化试验方法

第一节 糖类代谢试验	(272)
1. 糖类分解(或糖发酵)试验	(272)
2. 葡萄糖代谢类型测定	(275)
3. 甘油品红试验	(275)
4. 淀粉水解试验	(276)
5. β -半乳糖苷酶试验	(276)
6. 七叶苷水解试验	(278)
7. 几丁质水解试验	(279)
8. 果胶质水解试验	(279)
9. 聚糖产生试验	(279)
10. 甲基红试验	(280)
11. V-P试验	(280)

12. 二磷酸果糖醛缩酶试验.....	(283)
13. 2-酮-3-脱氧-6-磷酸葡萄糖醛缩酶试验.....	(284)
14. 葡萄糖醛脱氢酶试验.....	(285)
第二节 氨基酸和蛋白质代谢试验.....	(285)
15. 靛基质试验.....	(285)
16. 霍乱红试验.....	(286)
17. 硫化氢试验.....	(287)
18. 苯丙氨酸脱氨酶试验.....	(288)
19. 氨基酸脱羧酶试验.....	(289)
20. 精氨酸双水解酶试验.....	(290)
21. 尿素酶试验.....	(291)
22. 明胶液化试验.....	(292)
23. 凝固血清液化试验.....	(292)
24. 肉渣消化试验.....	(292)
第三节 碳源和氮源利用试验.....	(293)
25. 有机酸盐利用试验.....	(293)
26. 丙二酸钠利用试验.....	(294)
27. 马尿酸钠水解试验.....	(294)
28. 枸橼酸盐利用试验.....	(294)
29. 葡萄糖铵利用试验.....	(295)
30. 醋酸盐利用试验.....	(295)
31. 克氏枸橼酸盐试验.....	(296)
32. 唯一碳源试验.....	(296)
33. 唯一氮源试验.....	(296)
34. 生长因子试验.....	(297)
第四节 呼吸酶类试验.....	(297)
35. 氧化酶试验.....	(297)
36. 细胞色素氧化酶试验.....	(298)
37. 硝酸盐还原试验.....	(299)
38. 过氧化氢酶(触酶)试验.....	(301)
39. 过氧化物酶试验.....	(301)
40. 脱氢酶试验.....	(301)
第五节 脂酶、磷酸酯酶和DNA酶试验.....	(303)

41. 脂酶试验	(303)
42. 三酪素水解试验	(303)
43. 羧酸酯水解酶试验	(304)
44. 吐温水解试验	(304)
45. 卵磷脂酶试验	(305)
46. 磷酸酶试验	(306)
47. DNA 酶试验	(308)
第六节 其他酶类试验	(309)
48. 溶血试验	(309)
49. 凝固酶试验	(310)
50. 链球菌激活酶试验	(311)
51. 胆汁溶菌试验	(311)
52. 石蕊牛乳试验	(312)
53. 牛乳美蓝试验	(312)
第七节 抑菌试验	(313)
54. 氰化钾试验	(313)
55. 染料抑菌试验	(313)
56. Optochin 试验	(313)
57. O/129 抑菌试验	(314)
58. 抗菌素抑菌试验	(314)

第二十二章 诊断用品制造和抗原分析法

第一节 菌种的保存方法	(316)
第二节 诊断菌液的制造	(321)
一、伤寒、副伤寒及 OX_{10} 、 OX_2 、 OX_k 诊断菌液	(321)
第三节 诊断血清的制造	(323)
一、志贺氏菌分型血清	(323)
二、沙门氏菌因子血清	(326)
三、钩端螺旋体诊断血清	(334)
第四节 抗原分析法	(334)
一、因子血清的应用	(334)
二、凝集素吸收试验	(335)
三、O 抗原形变试验	(338)
四、H 抗原位相变异试验	(339)

五、钩端螺旋体凝集素吸收试验·····	(340)
六、链球菌C多糖体沉淀试验·····	(342)
第二十三章 噬菌体和细菌素试验方法	
第一节 噬菌体的分离·····	(344)
第二节 噬菌体效价增长试验·····	(346)
第三节 噬菌体用于细菌的鉴定·····	(348)
第四节 细菌素分型试验·····	(352)

第七章 肠道病原菌（肠杆菌科）检验

何晓青

第一节 肠杆菌科概论

肠杆菌科的致病性

肠杆菌科包括许多肠道传染病的病原菌，和与这些病原菌在生化特性、抗原特性方面有关的许多非病原菌。

肠杆菌科分为6个族，14个属。各菌属的致病性见表7—1。

生物学特性

肠杆菌科具有如下的生物学特性：

- （1）革兰氏阴性杆菌，无芽胞；
- （2）具有周生鞭毛（能运动）或无鞭毛（不能运动）；
- （3）能在普通培养基上生长；
- （4）还原硝酸盐为亚硝酸盐；
- （5）氧化酶试验为阴性；
- （6）分解糖类系由于发酵反应而不是由于氧化反应。

在实际工作中，肠杆菌科常须与粪产硷杆菌和假单胞菌科的细菌相鉴别，它们也都是能在普通培养基上生长的无芽胞革兰氏阴性杆菌。假单胞菌科系由具有端生鞭毛的细菌组成，由于鞭毛染色在日常工作中较不方便，故必须依靠其他的鉴别特征，这些细菌氧化酶试验常为阳性，有的可产生水溶性或萤光色素，有的可产生黄色至橙色非水溶性色素，分解糖类系由于氧化反应，或不能分解葡萄糖，均与肠杆菌科不同。这些细菌中有许多是专性需氧的类型，而肠杆菌科则均系需氧兼性厌氧者。

根据上述，我们可将具有下述性状之一的在普通培养基上生长良好的无芽胞革兰氏阴性杆菌排除于肠杆菌科之外：

- （1）氧化酶试验阳性；

表7-1

肠杆菌科各菌属的致病性

族	属	代 表 种 或 株	致 病 性
艾希氏菌族	艾希氏菌属	大肠艾希氏菌 O1:K1:H7	肠内正常栖生菌， 泌尿道感染、小儿 肠炎、食物中毒
	志贺氏菌属	痢疾志贺氏菌 1	痢疾
	沙门氏菌属	猪霍乱沙门氏菌	伤寒、副伤寒、肠 炎、食物中毒
	枸橼酸杆菌属	弗劳地枸橼酸杆菌 NCTC9750	肠内正常栖生菌
肠杆菌族	肠杆菌属	阴沟肠杆菌 NCTC10005	肠内正常栖生菌
	克雷伯氏菌属	肺炎克雷伯氏菌 1	肺炎、泌尿道感染
	哈夫尼亚菌属	蜂窝哈夫尼亚菌 32011	腐生菌
	沙雷氏菌属	粘质沙雷氏菌 BS303	创伤感染，腐生菌
欧文氏菌族	欧文氏菌属	梨火疫病欧文氏菌	植物病原菌
爱德华氏菌族	爱德华氏菌属	缓慢爱德华氏菌	肠炎，但罕见
变形杆菌族	变形杆菌属	普通变形杆菌 NCTC4175	腐生菌，亦可引起 食物中毒、创伤感 染
	摩根氏菌属	摩根氏摩根氏菌 NCTC235	
	普罗菲登斯菌属	砒化普罗菲登斯菌 ATCC9886	
耶尔辛氏菌族	耶尔辛氏菌属	鼠疫耶尔辛氏菌	鼠疫
		结肠炎耶尔辛氏菌	肠炎

(2) 葡萄糖代谢类型为氧化型;

(3) 葡萄糖不分解;

(4) 产生水溶性, 非水溶性或萤光色素(肠杆菌科仅沙雷氏菌属产生非水溶性红色色素);

(5) 专性需氧, 在半固体培养基生长于表面;

(6) 悬滴检查具有穿梭状的运动(这是假单胞菌科中常见的运动方式)。

用于肠杆菌科各菌属鉴别的生化特性见表7—2和表7—3。

表7—2 肠杆菌科各菌属的生化特性(一)

菌 属	葡 萄 糖	阿 拉 伯 糖	鼠 李 糖	木 糖	麦 芽 糖	乳 糖	蔗 糖	棉 子 糖	甘 露 醇	山 梨 醇	卫 矛 醇	侧 金 盞 花 醇	肌 醇	水 杨 苷
艾希氏菌属	+	+	d	+	+	+	d	d	+	+	d	-	-	d
志贺氏菌属	+	d	d	d	d	-	-	d	d	d	d	-	-	-
沙门氏菌属	+	+	+	+	+	d	-	-	+	+	d	-	d	-
枸橼酸杆菌属	+	+	+	+	+	+	d	d	+	+	d	-	-	d
克雷伯氏菌属	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	d	+	+	+
肠杆菌属	+	+	d	+	+	+	+	+	+	+	-	d	d	d
哈夫尼亚菌属	+	+	+	+	+	-/(+)	-/(+)	-	+	-	-	-	-	d
沙雷氏菌属	+	+	-	+	+	-/(+)	+	d	+	+	-	d	d	+
爱德华氏菌属	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
变形杆菌属	+	-	-	+	d	-	+/(+)	-	-	-	-	-	-	d
摩根氏菌属	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
普罗菲登斯菌属	+	-	d	-	-	-	-/(+)	-	d	-	-	d	d	d

抗 原 特 性

肠杆菌科的抗原成分较为复杂, 一般分为O抗原, K抗原和H抗原三大类。而在每个菌属中各种抗原成分的组合又极为错综复杂。

O抗原是菌体抗原, 能耐热, 煮沸100℃仍不破坏, 属于多糖质。

表 7—3

肠杆菌科各菌属的生化特性(二)

菌 属	苯丙氨酸脱氨酶	V P	靛 基 质	硫 化 氢	枸 橼 酸 铵	明 胶	尿 素	氰 化 钾	动 力	补 充 试 验					
										葡 萄 糖 铵	醋 酸 钠	赖 氨 酸	鸟 氨 酸	山 梨 醇	棉 子 糖
艾希氏菌属	-	-	+	-	-	-	-	-	+/-	+	+	+			
志贺氏菌属	-	-	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
沙门氏菌属	-	-	-	+	+	-(+)	-	-	+			+			
枸橼酸杆菌属	-	-	-	+	+	-	+	+	+			-			
爱德华氏菌属	-	-	+	+	-	-	-	-	+						
克雷伯氏菌属	-	+	-	-	+	-	+	+	-					+	+
肠杆菌属	-	+	-	-	+	(+)	+	+	+					+	+
哈夫尼亚菌属	-	+	-	-	-	-	-	+	+					-	-
沙雷氏菌属	-	+	-	-	+	+	+	+	+						
变形杆菌属	+	+/-	+/-	+	-/+	+	+	+	+						
摩根氏菌属	+	-	+	-	-	-	+	+	+				+		
普罗菲登斯菌属	+	-	+	-	+	-	-/+	+	+				-		

H 抗原是鞭毛抗原,不能耐热,属于蛋白质。

K 抗原是表层抗原或荚膜抗原的通称,按其性质可分为多种:Vi 抗原和 M 抗原经煮沸后可凝集性遭到破坏,但其结合凝集素的能力仍然存在;5 抗原过去认为是一种 O 抗原,它可因 1N 盐酸的作用而遭到破坏,故与 O 抗原不同。以上三种是沙门氏菌属的 K 抗原,其中 Vi 抗原亦见于某些巴勒鲁普枸橼酸杆菌。另有三类 K 抗原称为 L 抗原、A 抗原和 B 抗原,系为大肠艾希氏菌所有,而志贺氏菌属的 K 抗原经鉴定均系属于 B 抗原。L 抗原经煮沸后可凝集性及凝集素结合力均遭破坏。B 抗原经煮沸后失去了可凝集性而仍具有结合凝集素的能力,但它也不同于沙门氏菌的 Vi 抗原, B 抗原不因 1N 盐酸的作用而失去可凝集性, Vi 抗原则与其不同。A 抗原是真正的荚膜抗原,它是耐热性的。经 120℃ 加温 2 小时, A 抗原完